



## Review [Revisión]

***Xylella fastidiosa*: A MOLECULAR ANALYSIS OF BACTERIAL DISEASE STATUS AT INTERNATIONAL LEVEL†**[*Xylella fastidiosa*: UN ANÁLISIS MOLECULAR DEL ESTADO DE LA ENFERMEDAD BACTERIANA A NIVEL INTERNACIONAL]

**Ursula de Carmen López-Ferrer<sup>1</sup>, Hortensia Brito-Vega<sup>1\*</sup>,  
Edmundo Gómez-Méndez<sup>1</sup> and Rosa Ma. Salinas-Hernández<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ciencias Agropecuarias, Km. 25. Carretera Villahermosa-Teapa, Tel. (993) 3581500 Ext. 6602, 3581585 y 390 27 74. Teapa, Tabasco, México. Email. [ursulalopferrer@hotmail.com](mailto:ursulalopferrer@hotmail.com), [\\*hortensia.brito@ujat.mx](mailto:*hortensia.brito@ujat.mx), [egomezmen@hotmail.com](mailto:egomezmen@hotmail.com), and [rosalinasmx@hotmail.com](mailto:rosalinasmx@hotmail.com)  
\*Corresponding author

**SUMMARY**

**Background:** *Xylella fastidiosa* is a bacterium considered native to the American continent, which affects the vascular ducts of the xylem, causing diseases with an economically important cost in plantations. This species is distributed in Asia, America and Europe. The bacteria can be transmitted with the help of vector insects. **Objective.** The objective of this work was to carry out an analysis of the main theoretical and practical aspects of the *X. fastidiosa* species and its impact on agriculture. **Methodology.** The method used was a review of the literature and information available on the bacterium *Xylella fastidiosa* and its subspecies internationally and nationally. **Main findings.** The first known syndrome caused by this bacterium was described in 1892 by Newton Barris Pierce, when a strange pathology devastated thousands of hectares of vine in Los Angeles. In Mexico, Pierce's disease was detected in 1980 in vineyards in Baja California Norte and in 1995 in vineyards in Valle de Guadalupe, in the municipality of Ensenada, Baja California. *X. fastidiosa* entered the genomic era when in the year 2000 the first genome of a bacterium associated with plants, the 9a5c strain of Citrus Variegated Chlorosis, was sequenced. Since the first half of the 1990s, specific PCR primers have been used to identify *X. fastidiosa* from infected plants. **Implications.** Six subspecies of *Xylella fastidiosa* are currently considered: *fastidiosa*, *multiplax*, *sandyi*, *tashke*, *pauca* and *morus*; *fastidiosa* and *pauca* specifically affect citrus fruits and the related insect vectors are: *Bucephalagonia xanthohis*, *Diloboterus costalimaik*, *Acrogonia citrina*, *Oncometopia facialis*, *Ferrariana trivittata*, *Plesiommata corniculata*, *Homalodisca ignorata*, *Parathona virescens*, *Sonesimia grosdens* and *Acrogonia virescens*. Once the insect contains the bacteria, at least 200 viable bacteria are enough to infect the target plant. **Conclusions.** Currently there are still no solutions or established techniques to fully protect plantations, it is important to strengthen surveillance to limit the spread. DNA-based molecular biology is a valuable tool for the detection and characterization of *X. fastidiosa*.

**Key words:** citrus; Pierce's disease; PCR; vectors; xylem.

**RESUMEN**

**Antecedentes.** *Xylella fastidiosa* es una bacteria considerada nativa del continente americano, la cual afecta el conducto de xilema dentro de la planta, causando enfermedad con un costo económicamente importante en la producción *Citrus*. Esta especie se encuentra distribuida en Asia, América y Europa. La bacteria puede ser transmitida por medio de insectos vectores de la familia *Cicadellidae*. **Objetivo.** El objetivo de este trabajo fue realizar un análisis de los principales aspectos teóricos y prácticos sobre la especie *X. fastidiosa* y su impacto en la agricultura. **Metodología:** El método empleado fue una revisión de la literatura e información disponible de la bacteria *Xylella fastidiosa* y subspecies internacionalmente y nacional. **Principales hallazgos.** En México de Pierce se detectó en 1980 en viñedos de Baja California Norte y en 1995 en viñedos en el Valle de Guadalupe, del municipio de Ensenada, Baja California. *X. fastidiosa* entró en la era genómica cuando en el año 2000 se secuenció el primer genoma de una bacteria asociada a plantas, la cepa 9a5c de Clorosis Variegada de Cítricos (CVC). Desde la primera mitad de los años

† Submitted September 14, 2021 – Accepted October 25, 2021. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License.

ISSN: 1870-0462.

**ORCID information:** U. de C. López-Ferrer: 0000-0003-1297-6978, H. Brito-Vega: 0000-0002-2955-7924, E. Gómez-Méndez: 0000-0002-2196-4058, R. Ma. Salinas-Hernández: 0000-0001-7313-3566

noventa se han utilizado primers para el PCR (Polymerase Chain Reaction) específicos para identificar *X. fastidiosa* a partir de plantas infectadas. **Implicaciones.** Actualmente están consideradas seis subespecies de *Xylella fastidiosa*: *fastidiosa*, *multiplex*, *sandyi*, *tashke*, *pauca* y *morus*; *X. fastidiosa* subespecie *pauca* afectan específicamente a cítricos y los insectos vectores afines son: *Bucephalagonia xanthohis*, *Diloboterus costalimaik*, *Acrogonia citrina*, *Oncometopia facialis*, *Ferrariana trivittata*, *Plesiommata corniculata*, *Homalodisca ignorata*, *Parathona gratiosa*, *Sonesimia grossa* y *Acrogonia virescens*. **Conclusiones.** Actualmente aun no existen soluciones ni técnicas establecidas para proteger completamente las plantaciones, es importante fortalecer la vigilancia para limitar la propagación. La biología molecular basada en ADN es una valiosa herramienta para la detección y caracterización de *X. fastidiosa*.

**Palabras clave:** cítricos; enfermedad de Pierce; PCR; vectores; xilema.

## INTRODUCCIÓN

*Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, endémica de Centro América (Coletta-filho *et al.*, 2020), es una bacteria que afecta los conductos vasculares de xilema, causando enfermedades con un costo económicamente importante en plantaciones, por ejemplo, de uva (*Vitis vinifera*) y de cítricos (*Citrus* ssp), (Li *et al.*, 2013). El primer reporte de esta especie data de finales del siglo XIX en California, Estados Unidos (Baldi y Porta, 2017). Esta especie en específico se encuentra distribuida en tres continentes: Asia, América y Europa (EPPO, 2018). Actualmente están consideradas seis subespecies de *Xylella fastidiosa*: *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*; *X. fastidiosa* subsp. *multiplex*; *X. fastidiosa* subsp. *sandyi*; *X. fastidiosa* subsp. *tashke*, *X. fastidiosa* subsp. *pauca* y *X. fastidiosa* subsp. *morus* (SENASICA, 2019a). La bacteria, a distancias cortas, puede ser transmitida con la ayuda de insectos vectores de la familia *Cicadellidae* y *Cercopidae*. En este sentido, se han reportado seis de los 46 insectos vectores que existen en América, pero de estos, solo dos afectan a cítricos: *Ferrariana trivittata* y *Plesiommata corniculata*, y su riesgo de transmisión es mediano (SENASICA, 2019a). Pero la subespecie que afecta a cítricos es *X. fastidiosa* ssp. *pauca*, que causa clorosis variegada de cítricos (Rapicavoli, 2018). La permanencia de la bacteria dentro del aparato de alimentación del vector no es un lugar fácil de ser colonizado debido al rápido flujo de savia dentro de este, además de la turbulencia que causan las contracciones de los músculos para bombear la savia (Purcell y Finlay, 1979; Dugravot *et al.*, 2008). Dentro del xilema, las bacterias forman grumos que bloquean la conducción de sustancias y la planta aparenta decaimiento en sus hojas como en el estrés hídrico (Simpson *et al.*, 2000). Los síntomas son, partes cloróticas con una significativa reducción del tamaño del fruto (Coletta-filho *et al.*, 2020). El objetivo de este trabajo fue realizar un análisis de los principales aspectos teóricos y prácticos sobre la especie *Xylella fastidiosa* y su impacto en la agricultura, que permita a los lectores disponer de información importante que se encuentra dispersa en diferentes fuentes, para hacer un

acercamiento de esta especie a nivel nacional e internacional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se elaboró una base de datos de *X. fastidiosa*, subespecies e información sobre la distribución internacional, y algunos vectores de plantas *Citrus* reportadas por la ScienceDirect, Google, Google Académico, Pubmed; <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>, y <https://www.redalyc.org/> con los siguientes tres tipos de información: 1) referencias bibliográficas, 2) Digital Object Identifier (DOI) servicios, registro, y registro para la norma ISO (ISO 26324) para el sistema DOI; y 3) Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad e internacional, bancos bio y genes (genbank). La información se capturó y clasificó de acuerdo con su estado de arte e importancia, historia, distribución geográfica, y ecológica. La sección molecular se agrupó por el año de más antigua a lo actual sobre protocolo *X. fastidiosa* y subespecies. La sección ecológica sobre su presencia en los cultivos por primera, incluyó su distribución de las subespecies en cada país y a nivel nacional. En aquellos casos en que los registros no contaban con datos de referenciación, se infirieron con la descripción de otras fuentes de información como FAO, EFSA, EPPO, DOF y SENASICA.

## Historia de la bacteria a nivel internación y nacional

La historia de *X. fastidiosa* tiene ya más de un siglo, porque el primer síndrome conocido causado por esta bacteria fue descrito en 1892 por Newton Barris Pierce, cuando una extraña patología arrasó miles de hectáreas de vid en Los Ángeles, California, USA (Janse y Obradovic, 2010). En homenaje al formidable trabajo de aquel científico, la enfermedad se denominó en 1930 enfermedad de Pierce (Enfermedad de Pierce o EP) (Gardner y Hewitt, 1974). Posteriormente, en la década de 1940 se demostró la transmisión de la enfermedad por vectores (Purcell, 2013; Janse y Obradovic, 2010). Sin embargo, el agente causal no se

aisló en cultivo hasta 1978 (Davis *et al.*, 1978). Fue hasta 1987 cuando esta bacteria fue adecuadamente descrita, clasificada y denominada como la única especie de un nuevo género, recibiendo el nombre de *Xylella fastidiosa* (Wells *et al.*, 1987). Hoy en día, la enfermedad de Pierce sigue siendo una gran preocupación para los productores del sur de EE.UU. De hecho, en la primera década de este siglo XXI, *X. fastidiosa* era considerada como una de las mayores amenazas para diversos cultivos de varios países americanos (Hopkins y Purcell, 2002). Una vez que *X. fastidiosa* se aisló en medio de cultivo de laboratorio y se describió, empezó a encontrarse en muchos otros huéspedes además de la vid, tanto en plantas con síntomas como sin síntomas. Entre ellas están *Prunus* spp., *Acer* spp., *Carya illinoensis*, *Coffea arabica*, *Citrus*, *Hedera helix*, *Morus rubra*, *Nerium oleander*, *Platanus occidentalis*, *Quercus* spp., *Ulmus americana*, *Medicago sativa*, *Vinca major*, *Persea americana*. La caracterización de *X. fastidiosa* culminó con la secuenciación del genoma completo de una cepa de cítricos (Simpson *et al.*, 2000), siendo la primera bacteria fitopatógena de la que se secuenció todo el genoma, lo que da idea de la importancia que este patógeno ha ido adquiriendo.

En 1987, *X. fastidiosa* fue asociada en Brasil a una grave enfermedad observada en distintas variedades de naranjo dulce (*Citrus X sinensis*), que producía clorosis en hojas y decaimiento de los árboles, a la que se denominó clorosis variegada de los cítricos (Citrus Variegated Chlorosis o CVC) (Chang *et al.*, 1993; Miller, 1994). Se demostró que esa enfermedad estaba causada por *X. fastidiosa* subsp. *pauca* y hasta la fecha solo ha sido diagnosticada en Brasil, en América de Sur (Miller, 1994; Brlansky *et al.*, 2002; Coletta y Machado, 2003; Aguilar *et al.*, 2005). Veinte años después de la primera detección en Brasil se estimaba que más del 40 % de los 200 millones de naranjos que hay en el estado de Sao Paulo y en el triángulo minero del estado de Minas Gerais estaban infectados por *X. fastidiosa* (Bové y Ayres, 2007).

En la década de 1990 se confirmó como vector exótico muy eficiente en la transmisión de la bacteria y a la vez de difícil control y manejo, *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae) (Chatterjee *et al.*, 2008). En 2013 se detectó que la bacteria había pasado de nuevo del continente americano al europeo, cuando la enfermedad denominada decaimiento súbito del olivo u OQDS (Olive Quick Decline Syndrome) fue identificada por primera vez en la región de Apulia, en el sureste de Italia, y se demostró que en las plantas afectadas estaba presente *X. fastidiosa* subsp. *pauca* (Saponari *et al.*, 2013; Legendre *et al.*, 2014). Hasta entonces esta subespecie solo se había detectado en cítricos y en café (*Coffea* sp.) en Brasil y en plantas

ornamentales en Costa Rica. La identificación de *X. fastidiosa* en los olivos (*Olea europaea*) afectados representó la primera detección confirmada de esta bacteria en la Unión Europea (UE). En Apulia, *X. fastidiosa* es transmitida por *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) (Saponari *et al.*, 2014).

En 2015 y 2016, las autoridades francesas y alemanas informaron un primer brote de *X. fastidiosa* en esos territorios, en la planta ornamental *Polygala myrtifolia* y en Francia se detectó la subespecie *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* (Europea, 2019). En Alemania, se identificó la subespecie identificada *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* y unos meses después también se detectó *X. fastidiosa* en *Streptocarpus* sp. y en híbridos de *Erysimum*.

En España, en el transcurso de inspecciones y análisis rutinarios en Mallorca, se detectó *X. fastidiosa* en cerezos (*Prunus* subg. *Cerasus*) y plantas de *Polygala myrtifolia* (Olmo *et al.*, 2017). La bacteria se ha seguido detectando desde entonces en diversas especies frutales y ornamentales, así como en Ibiza y en Menorca. A comienzos del verano de 2017 *X. fastidiosa* se detectó también en plantaciones de *Prunus dulcis* (Landa *et al.*, 2017).

En México, la enfermedad de Pierce se detectó en 1980 en viñedos de Baja California Norte y en 1995 se encontró afectando viñedos en el Valle de Guadalupe, Municipio de Ensenada, Baja California y actualmente está en cuarentena (SENASICA, 2016; Camacho-Aguilar *et al.*, 2019). En 2010 en el norte de Nuevo México, en melocotones (*Prunus pérsica* (L.) Batsch) dieron positivo para *X. fastidiosa* mediante ELISA y análisis de PCR (Randall *et al.*, 2011).

### Nomenclatura taxonómica molecular internacional

Taxonómicamente *Xylella fastidiosa* se ubica en el reino Bacteria, que pertenece a la clase Gamma de la proteobacteria, Orden *Xanthomonadales* y familia *Xanthomonadaceae*. Hasta hace relativamente poco tiempo *X. fastidiosa* era la única especie dentro del género *Xylella*. Sin embargo, en 2016 se ha denominado como *X. taiwanensis* a una estirpe, hasta ese momento considerada como *X. fastidiosa*, que se identificó en 1994 en Taiwán, Asia, causando el chamuscado del peral asiático (*Pyrus pyrifolia*) y que presentaba características genéticas y fisiológicas diferentes de *X. fastidiosa* (Su *et al.*, 2016; Landa *et al.*, 2017).

*X. fastidiosa* entró en la era genómica cuando en el año 2000, se secuenció el primer genoma de una bacteria asociada a plantas, la cepa 9a5c de CVC (Simpson *et al.*, 2000). Dos años más tarde, se publicaron las

secuencias preliminares de Dixon (*X. fastidiosa* subsp. *multiplex*) y Ann-1 (*X. fastidiosa* subsp. *sandyi*) (Bhattacharyya *et al.*, 2002), seguidas pronto por el agente etiológico de la enfermedad de Parkinson en California, USA (Temecula1, *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa*) (Van-Sluys *et al.*, 2003). En 2006, se publicó un estudio basado en poliformismo de un solo nucleótido (SNP) que investigaba las variaciones genéticas de cuatro cepas y mostraba variaciones en las tasas de evolución del genoma entre las subespecies (Doddapaneni *et al.*, 2006). Otros estudios genómicos utilizaron estos datos para estudiar los brotes recientes de *X. fastidiosa*, estableciendo el vínculo entre las cepas europeas y centroamericanas (Loconsole *et al.*, 2016; Giampetruzzi *et al.*, 2017; Marcelletti y Scortichini, 2016; Vanhove *et al.*, 2019).

La PCR se ha utilizado ampliamente para la detección e identificación molecular de diversos patógenos vegetales, incluido *X. fastidiosa*. El conjunto de primers de PCR convencional RST31/RST33 diseñado en un gen de proteína hipotético (XF\_1351) (Minsavage *et al.*, 1994), se utiliza actualmente para pruebas de cuarentena de rutina en varios países; sin embargo, el ensayo no pudo detectar todos los aislamientos de la bacteria (Harper *et al.*, 2010). La alta homología y el carácter específico de especie de las secuencias de rDNA 16S bacteriana se han utilizado para identificar especies de *X. fastidiosa* (Chen *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2019).

Desde la primera mitad de los años noventa se han utilizado primers de PCR específicos para identificar *X. fastidiosa* a partir de plantas infectadas (Tabla 1). En los primeros informes, la región genómica amplificada podría pertenecer a un gen definido, como el rDNA 16S (Firrao y Bazzi, 1994), pero también a fragmentos seleccionados de DNA bacteriano de función desconocida (Minsavage *et al.*, 1994). En Pooler y Hartung (1995a) desarrollaron una serie de primers específicos capaces de detectar cepas de *X. fastidiosa* que causan CVC mediante la clonación y secuenciación de productos de DNA polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD) (Pooler y Hartung, 1995). Desde entonces se han publicado varios informes que describen el desarrollo de primers para PCR específicos para la identificación de *X.*

*fastidiosa*, el rDNA 16S y la región espaciadora intergénica (ITS) 16S-23S son los objetivos más comunes (Chen *et al.*, 2005; Martinati *et al.*, 2007), también se han utilizado varias otras secuencias genómicas, con o sin una función conocida (Travensolo *et al.*, 2005; Huang, 2009). Se puede aprovechar el uso de diferentes genes, solos o en combinación, para aumentar el nivel de sensibilidad y especificidad de la prueba. De hecho, la detección temprana de patógenos antes del desarrollo de cualquier síntoma por parte de la planta hospedante es crucial para el desarrollo de una estrategia de defensa correcta, pero cuando se utiliza para análisis de campo, la prueba de detección también debe ser lo más fácil y rápida posible. Por lo tanto, es difícil desarrollar una sola prueba que pueda usarse en todas las condiciones, pero combinando diferentes enfoques, los investigadores pueden encontrar un equilibrio entre sensibilidad, especificidad y facilidad de uso. Por ejemplo, el gen que codifica el polipéptido de la subunidad b en el DNA (*gyrB*) se utilizó en combinación con el DNAr 16S para aumentar la especificidad de la prueba, porque se cree que *gyrB* evoluciona mucho más rápido que el DNAr 16S (Yamamoto *et al.*, 1999). Para un análisis genético inicial de la población de *X. fastidiosa* en Texas, EE. UU., se utilizó *gyrB* junto con *mopB*, este último codificando una proteína de la membrana externa de la familia OmpA con una secuencia bastante conservada (Morano *et al.*, 2008). Cuando se usa un solo par de primers para amplificar un objetivo específico, existe una posibilidad baja pero distinta de cero a falsos positivos debido al reconocimiento de primers no objetivo con alta similitud de secuencia con el objetivo. Por el contrario, se pueden generar falsos negativos debido a variaciones en el genoma bacteriano, particularmente a mutaciones en el sitio de reconocimiento de los primers (Sally *et al.*, 2005). Para evitar tales problemas, se pueden utilizar enfoques más complejos. En un estudio reciente, *gyrB* se combinó con un conjunto de genes internos para el desarrollo de un protocolo de PCR de matriz que permitió analizar una gran cantidad de muestras evitando la aparición de falsos negativos debido al fracaso de la amplificación por PCR de un solo par de primer (Livingston *et al.*, 2010).

**Tabla 1. Primers específicos diseñados para la identificación de *X. fastidiosa* por medio de PCR.**

| Forward primer 5'-3'                | Reverse primer 5'-3'           | Tamaño | Gen objetivo                                | Hospederos   | Referencia                     |
|-------------------------------------|--------------------------------|--------|---|--|--------------------------------|
| RST31:<br>GCGTTAATTTTCGAAGTGATTCTGA | RST33:<br>CACCATTTCGTATCCCGGTG | 733    | 7.4 kb EcoR1<br>fragmento de<br>restricción | Vid, cítricos,<br>roble, roble<br>rojo, sicomoro,<br>ciruelo, vara de<br>oro | Minsavage <i>et al.</i> (1994) |

| Forward primer 5'-3'               | Reverse primer 5'-3'                        | Tamaño | Gen objetivo                                    | Hospederos  | Referencia                                     |
|------------------------------------|---|--------|---|---|--|
| XF1-F: CAGCACATTGGTAGTAATAC        | XF6_R:<br>ACTAGGTATTAACCAATTGC              | 400    | 16s rDNA  | Vid, almendra,<br>ciruela, olmo<br>americano,<br>cítricos                                       | Firrao y Bazzi<br>(1994)                       |
| 208-1: ACGGCCGACCATTACTGCTG        | 208-2: ACGGCCGACCCGGAGTATCA                 | 320    | RAPD<br>fragmento                               | Cítricos, vid,<br>morera,<br>almendra,<br>ciruela, olmo,<br>roble,<br>ambrosía, vinca           | Pooler y<br>Hartung<br>(1995)                  |
| 203-1: CACGGCGAGTATCGGCTTTC        | 203-2: CACGGCGAGTCGACGTAAAT                 | 2,000  | -   | -   | -  |
| 204-1: TTCGGGCCGTCATATGTGTTG       | 204-2: TTCGGGCCGTTTACTCAAAG                 | 800    | -   | -   | -  |
| 230-1: CGTCGCCCATCAACGCCAAA        | 230-2: CGTCGCCCATGTGTGTCAG                  | 700    | -   | -   | -  |
| 272-1:<br>AGCGGGCCAATATTCAATTGC    | 272-2:<br>AGCGGGCCAAAACGATGCGTG             | 700    | -   | -   | -  |
| 272-1-int:<br>CTGCACTTACCAATGCATCG | 272-2-int:<br>GCCGCTTCGGAGAGCATTCT          | 500    | -   | -   | -  |
| CVC-1:<br>AGATGAAAACAATCATCGAAA    | 272-2:<br>AGCGGGCCAAAACGATGCGTG             | 600    | -   | Cítricos  | -  |
| CVC-1:<br>AGATGAAAACAATCATCGAAA    | 272-2-int:<br>GCCGCTTCGGAGAGCATTCT          | 500    | -   | Cítricos<br>(específicos)   | -  |
| XF176f: AAACAATCACAGGGGACTGC       | XF954r:<br>CTATCCGAACACTTCCTATG             | 779    | PD-fragmento<br>RAPD<br>específico<br>(PD1-1-2) | Vid<br>(enfermedad de<br>Pierce)  | Banks <i>et al.</i><br>(1999)                  |
| XF176f: AAACAATCACAGGGGACTGC       | XF686r:<br>ATATTCATAGATTCCGTCGA             | 511    | -   | Cítricos,<br>morera, roble,<br>vinca,<br>melocotón,<br>ciruela<br>(enfermedad de<br>Non-Pierce) | -  |
| G1: GAAGTCGTAACAAGG                | L1: CAAGGCATCCACCGT                         | 522    | 16S rDNA  | Baya de<br>porcelana, uva<br>silvestre,<br>morera   | Huang y<br>Sherald<br>(2004)                   |
| Teme150fc:<br>TCTACCTTATCGTGGGGGAC | Teme454rg:<br>ACAAC TAGGTATTAACCAATTGC<br>C | 348    | 16S rDNA  | Almendra  | Chen <i>et al.</i><br>(2005)                   |
| Teme150fc:<br>TCTACCTTATCGTGGGGGAC | Xf16s1031r:<br>AAGGCACCAATCCATCTCTG         | 700    | -   | -   | -  |
| Dixon454fa:<br>CCTTTTGTGGGGAAGAAAA | Dixon1261rg:<br>TAGCTCACCTCGCGAGATC         | 847    | -   | -   | -  |
| REP1-R: IIIICGICGIATCCIGGC         | Xf-1:<br>CGGGGTGTAGGAGGGTGT                 | 350    | Fragmento<br>genómico<br>amplificado            | Cítricos, uva,<br>almendra,<br>morera, roble,<br>vinca, ciruela,<br>café, olmo,<br>ambrosía     | Travensolo <i>et al.</i><br>(2005)             |
| XF1968-L:<br>GGAGGTTTACCGAAGACAGAT | XF1968-R:<br>ATCCACAGTAAAACCATGC            | 638    | GenXF1968                                       | Almendra,<br>adelfa   | Hernandez-<br>Martinez <i>et al.</i><br>(2006) |
| XF2542-L:<br>TTGATCGAGCTGATGATCG   | XF2542-R:<br>CAGTACAGCCTGCTGGAGTTA          | 412    | Gen XF2542                                      | Uva, almendra,<br>escoba<br>española,<br><i>Brassica</i> spp.                                   | -  |
| ALM1:<br>CTGCAGAAATTGGAACTTCAG     | ALM2: GCCACACGTGATCTATGAA                   | 521    | Gen ALM1  | Almendra<br>(específica)  | -  |
| 16S-23SF:<br>GATGACTGGGGTGAAGTCGT  | 16S-23SR:<br>GACACTTTTCGAGGCTACC            | 650    | Espaciador<br>intergénico<br>16S-23S            | Cítricos, café,<br>vid, morera,<br>olmo de<br>almendra,<br>ambrosía, vinca                      | Martinati <i>et al.</i><br>(2007)              |

| Forward primer 5'-3'                      | Reverse primer 5'-3'                 | Tamaño  | Gen objetivo   | Hospederos   | Referencia                         |
|---|--------------------------------------|---------|--|--|------------------------------------|
| 307 BBF: GCAAGTCAGGGTAGCGTCTC             | 943<br>GGCTTCTCTGTCGATTTTCG          | BBR: nd | mopB   | Uva, mirto de mar, sombrero mexicano Redspike, otros | Morano <i>et al.</i> (2008)        |
| HQ-OLS08:<br>TGTACGTCTGAAACCATCTTG        | HQ-OLS05:<br>TTCTGGAAGCTTTGAGTAAGGG  | 274     | Fragmento RAPD   | Adelfa (específica)                                  | Huang (2009)                       |
| D056L: AACAAAGGGACCTTCCATGC               | D858R:<br>AGCAATCGCTGCACCTAAAT       | 842     | Subunidad alfa de la succinil-CoA sintetasa (sucD) ADN                               | Almendra   | Livingston <i>et al.</i> (2010)    |
| G151f:<br>GATCCGAAAGTGGGGAGATTACT ATC     | G368r:<br>GCCATTGCAAAAGCAGTACGCTCA   | 217     | ADN polimerasa III subunidad beta (dnaN)   | —  |                                    |
| A151f:<br>GATGCGAAAGCGGGGAGATTACT ATT     | A518r:<br>GCCTTACGCGGCAAAATAATCT GA  | 367     | ADN polimerasa III subunidad beta (dnaN)   | —  |                                    |
| A97f:<br>CATGCTGGTGGTAAGTTCGACGAT AAC     | A476r:<br>CAACAATGCCGTTGTGCTCACCG    | 379     | Polipéptido de la subunidad beta de la ADN girasa (gyrB)                             | —  |                                    |
| G223f: CGGTGGCGAAACGGTAATCC               | G705r:<br>GGAGAAATGTTGGCAAAGACA GGC  | 482     | mdh Malato deshidrogenasa  | —  |                                    |
| A345f:<br>TTTTTCAATGTTGGCGACAGGCTTA CT    | A705r:<br>GGAGAAATGTTGGCAAAGACA GGT  | 360     | mdh Malato deshidrogenasa  | —  |                                    |
| B001L:<br>TTAGGTGGCAAGGATCGAAT            | B462R:<br>GGGCCGATCAAAATCAATCT       | 491     | ppiB Peptidil-prolil cis-trans isomerasa   | —  |                                    |
| A284f:<br>GACGAGTTTGCCAAGTTTGATGAT GAAATC | A680r: GCCAGTCGAACCCACCAAG           | 396     | gltA Citrato sintasa   | —  |                                    |
| I068L: CGTGGGTCACGAGTCATAAA               | I386R:<br>TCACAAAAACTACGGCACTG       | 358     | rpsI 30S proteína ribosómica S9  | —  |                                    |
| PspB-256f: TGAGTGCCTGCGGTGGTA             | PspB-256r:<br>CGAAACTGGCAGCTAACG     | 256     | pspB Serina proteasa   | —  |                                    |
| XFPglA_Fw:<br>GCCTCCGGTGCAGCTGCTTC        | XFPglA_Rv:<br>GCTGCGATTGGACACACATTG  | nd      | PglA   | Pecana, Adelfa, sicomoro                             | Vid, Melanson <i>et al.</i> (2012) |
| Mul-15040-F:<br>ATTTTCGCGATTTTGGAGTT      | Mul-15040-R:<br>TTCTTGTGTACTCCGCCTCA | 312     | Proteína hipotética con sistema de bacillitiol putativo oxidoreductasa, familia YpdA | Morera y (específica)                                | Guan <i>et al.</i> (2015)          |
| Xfa-rpod-F4:<br>ACTGAGGTTGTCGTTGGCTT      | Xfa-rpod-R4:<br>CCTCAGGCATGTCCATTTC  | 988     | Factor sigma-70 de la ARN polimerasa (rpoD)  | Aceituna, cítricos, café                             | Bleve <i>et al.</i> (2016)         |
| Xfa-dnaA-2F:<br>TTCCATCAAATTGACGCGCT      | Xfa-dnaA-2R:<br>CGGCAAGCATGTAACACTGT | 650     | Proteína iniciadora de replicación cromosómica DnaA (dnaA)                           | —  |                                    |

Según la región genómica objetivo o el gen bacteriano seleccionado, la especificidad de los primers utilizados para el análisis puede variar, de género a subespecie, en algunos casos, e incluso a diferentes cepas

pertenecientes a la misma subespecie, por lo que es crucial durante la amplificación para evitar una mala interpretación de los resultados. Para el análisis de *X. fastidiosa*, se pueden encontrar varios ejemplos

explicativos en la literatura. A partir de un grupo de RAPD específicos de *X. fastidiosa*, Pooler y Hartung (1995) analizaron un grupo de 21 cepas bacterianas recolectadas en diferentes regiones de EE. UU., Brasil y desarrollaron un par de primers capaces de distinguir las cepas de *X. fastidiosa* causando CVC de todas las demás. De manera similar, Banks *et al.* (1999) diseñaron dos conjuntos específicos de primers de una cepa EP recolectada en Florida: el primero podría usarse para distinguir entre *X. fastidiosa* y *Xanthomonas campestris*; el segundo para amplificar un fragmento de 511 pb de 98 cepas EP pero no de CVC y cepas de *X. fastidiosa*. Por tanto, ambos conjuntos de primers se pueden aprovechar para identificar *X. fastidiosa*, pero el segundo mostró una mayor especificidad y se puede utilizar en estudios más detallados. Más recientemente, se desarrolló y probó con éxito un conjunto de primers específicos para cepas OLS de *X. fastidiosa* en bacterias cultivadas, muestras de plantas infectadas e insectos vectores capaces de transmitir OLS (Huang, 2009). Se informó un caso particular cuando se desarrolló un conjunto de primers específicos para cepas de *X. fastidiosa* que infectan a partir de la secuencia de nucleótidos de un marco de lectura abierto único identificado solo en las cepas que infectan la bacteria entre todas las cepas de *X. fastidiosa* de América del Norte y del Sur secuenciada (Guan *et al.*, 2015). Dichos primers podrían distinguir entre las cepas que infectan la bacteria *X. fastidiosa* y las que infectan a otras especies de árboles, como el sicomoro (*Acer pseudoplatanus*), el olmo (*Ulmus* spp), el roble (*Quercus robur*), el ciruelo (*Prunus domestica*), el arce (*Acer* spp) y la uva (*Vitis vinifera*). Sorprendentemente, con el mismo conjunto de primers también se pudo obtener una amplificación específica a partir de dos aislados de *X. fastidiosa* pertenecientes a la cepa CoDiRO secuenciada recientemente que infecta olivos (*Olea europaea*) en Italia (Guan *et al.*, 2015). Esto significa que a veces puede resultar difícil identificar sin ambigüedades una cepa determinada de *X. fastidiosa* mediante el uso de un único enfoque. Incluso el uso de técnicas avanzadas como la tipificación de secuencias multilocus no siempre es suficiente para distinguir entre cepas estrechamente relacionadas, como para la caracterización de una nueva cepa de *X. fastidiosa* (Salento-1) infectando *O. europaea* en Italia (Bleve *et al.*, 2016). En este caso, fue necesario el análisis de dos genes adicionales, el factor polimerasa sigma 70 (rpoD) y la proteína iniciadora de la replicación cromosómica DnaA (dnaA) para separar Salento-1 de las cepas estrechamente relacionadas de *X. fastidiosa* subsp. *pauca* aislada de cítricos y café en Brasil (Bleve *et al.*, 2016).

Se desarrolló una combinación de multiprimer con tres objetivos diferentes para diferenciar cepas de *X.*

*fastidiosa* que infectan *V. vinifera*, *Prunus dulcis* y *Nerium oleander* (Hernandez-Martinez *et al.*, 2006). De esta forma se pudieron distinguir cepas pertenecientes a distintas subespecies (*multiplex*, *fastidiosa* y *sandyi*). Además, dos cepas diferentes (ALSI y ALSII) pertenecientes a la subespecie *multiplex* y que infectan las almendras podrían separarse sobre la base de patrones de amplificación. Cuando el objetivo del estudio es caracterizar una nueva cepa o un grupo de cepas de *X. fastidiosa* en lugar de la identificación rápida y eficiente del patógeno en condiciones de campo, la combinación de múltiples técnicas moleculares puede mejorar en gran medida el poder de resolución de la prueba. Un buen ejemplo es un estudio realizado en nuez pecana (*Carya illinoensis*), donde se utilizó un ensayo de PCR multiprimers en combinación con otras técnicas basadas en PCR, como la amplificación y análisis de secuencia del gen 16S-23S ITS y *pglA*, así como el consenso intergénico repetitivo de enterobacterias (ERIC) PCR y palindrómico extragénico repetitivo (REP) PCR. De esta forma, se pudieron clasificar las cepas de *X. fastidiosa* que infectan la *C. illinoensis* como pertenecientes a la *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* (Melanson *et al.*, 2012).

Una forma diferente de aumentar la sensibilidad de la PCR es la denominada PCR anidada (N-PCR) que implica el uso de dos conjuntos diferentes de cebadores específicos para la misma región en dos ejecuciones sucesivas. El segundo conjunto de cebadores está diseñado para reconocer un objetivo secundario dentro del producto de PCR obtenido con el primer conjunto. Pooler *et al.* (1997) utilizaron N-PCR en combinación con separación inmunomagnética para seleccionar una población de 16 especies diferentes de chicharritas, vectores putativos de *X. fastidiosa*, que viven en el olmo americano (*Ulmus americana* L.). Dos de estas especies dieron positivo regularmente con esta técnica, con una sensibilidad de tan solo cinco bacterias por muestra. De manera similar, se utilizó N-PCR en combinación con inmunocaptura (IC) para la detección de *X. fastidiosa* en tejido de vid (Buzkan *et al.*, 2003). En comparación con el estándar no IC-PCR, se obtuvo un aumento de sensibilidad de 10,000 veces gracias al procedimiento de IC y un aumento adicional de 1,000 veces con primers de N-PCR, logrando una sensibilidad máxima de 2 UFC/ml de concentración de bacterias en extracto de hoja de uva. En otro trabajo, se combinaron tres protocolos diferentes de extracción y purificación de bacterias con N-PCR y se usaron para identificar huéspedes alternativos de *X. fastidiosa* en el área de Washington D.C. (McElrone *et al.*, 1999). Mediante la optimización del método de extracción de ADN bacteriano utilizando resina de intercambio iónico (Chelex 100) y N-PCR, fue posible aumentar la sensibilidad de detección de *X. fastidiosa* de plantas de

cítricos y chicharritas hasta dos bacterias por reacción (Ciapina *et al.*, 2004). Por lo tanto, una vez que se hayan optimizado los pares de primers y las condiciones de PCR, el NPCR puede considerarse una forma muy eficaz de aumentar la sensibilidad de detección y podría utilizarse para la detección temprana de *X. fastidiosa*.

Se puede obtener una mejora adicional en las técnicas de detección de bacterias basadas en PCR mediante el uso de qRT-PCR (cuantitativa en tiempo real) (Heid *et al.*, 1996; Ionescu *et al.*, 2016). Por tanto, mediante qRT-PCR es posible estudiar con más detalle la distribución temporal y espacial de *X. fastidiosa* en plantas infectadas. Los primers utilizados para qRT-PCR son similares a los utilizados para la PCR convencional, mientras que el producto de amplificación suele ser más corto que en la PCR normal. Además, dependiendo de la técnica utilizada (SYBR green o TaqMan), puede ser necesaria una sonda marcada con fluorescencia (Heid *et al.*, 1996; Wittwer *et al.*, 1997). En uno de los primeros informes publicados, se utilizó qRT-PCR para cuantificar *X. fastidiosa* en cítricos infectados de forma natural y artificial (Oliveira *et al.*, 2002). Se detectaron diferencias temporales en el número de células bacterianas, que aumentan con la edad de las hojas examinadas. También se encontraron diferencias espaciales, sin que se detectaran bacterias en la sección de la nervadura central superior de las hojas jóvenes. En el mismo trabajo se utilizó qRT-PCR para comparar un cultivar de cítricos resistente y susceptible. Este es un buen ejemplo de cómo se puede utilizar qRT-PCR para estudiar el desarrollo de enfermedades bacterianas en plantas. Mediante qRT-PCR es posible, por ejemplo, cuantificar bacterias en diferentes órganos de la planta en diferentes momentos después de la infección, correlacionar una determinada cantidad de bacterias con la aparición de los primeros síntomas y encontrar diferencias entre plantas que muestran grados variables de resistencia. No obstante, qRT-PCR también se puede utilizar para aplicaciones de campo. Se utilizó un Smart Cycler portátil para el diagnóstico *in situ* de 1 h para detectar *X. fastidiosa* en la uva (Schaad *et al.*, 2002). Usando savia y muestras de astillas maceradas de xilema secundario de troncos de árboles de vid en una qRT-PCR directa sin extracción de ADN, los autores pudieron detectar positivamente *X. fastidiosa* en aproximadamente el 26% de las plantas asintomáticas examinadas. Luego, los resultados se confirmaron mediante otras técnicas, como el aislamiento directo de bacterias. Incluso si estos resultados sugieren que la qRT-PCR se puede utilizar de forma eficaz en lugar de la PCR estándar, siempre depende del investigador elegir el enfoque más adecuado para cada estudio.

En cuanto a los métodos de PCR convencionales, también para qRT-PCR el nivel de especificidad puede variar según el diseño del primer y el objetivo genómico. Como ejemplo, los primers HL5 y HL6 se diseñaron para amplificar una región única común a los genomas secuenciados de cuatro cepas de *X. fastidiosa* que causan EP, ALS, OLS y CVC. Dichos primers se pueden usar eficazmente para distinguir entre infecciones de *X. fastidiosa*, otros patógenos de plantas y se han probado en varias especies de plantas e insectos (Francis *et al.*, 2006). En otros trabajos, se desarrollaron conjuntos de primers específicamente para reconocer cepas que infectan *N. oleander* (Guan *et al.*, 2013) o cepas que causan CVC (Li *et al.*, 2013). En total, qRT-PCR mostró las mismas ventajas que la PCR convencional, que son una alta sensibilidad y especificidad. Además, se puede obtener información adicional sobre la distribución temporal y espacial del patógeno. Uno de los inconvenientes de esta técnica es que puede ser más difícil optimizar el protocolo, especialmente cuando se usan sondas TaqMan. Cuando se usa qRT-PCR, se pueden usar estrategias adicionales para distinguir entre diferentes genotipos. Se desarrolló un protocolo, basado en SYBR green qRT-PCR, para la diferenciación del genotipo de *X. fastidiosa* utilizando un solo par de cebadores y aprovechando las diferencias en la temperatura de fusión ( $T_m$ ) debido a las pequeñas diferencias de la secuencia objetivo. Dicho protocolo se probó en ocho cepas de EP, seis de OLS y seis de ALS que podrían colocarse con éxito en el grupo de cepas respectivo mediante el análisis de la curva de  $T_m$  (Bextine y Child, 2007). De manera similar, Brady *et al.* (2012) utilizando un conjunto de sondas fluorescentes, desarrolló un sistema de tipificación en fusión multilocus (MLMT) para discriminar las subespecies y cepas de *X. fastidiosa* en reacciones rápidas en tiempo real. Estos enfoques son potencialmente muy interesantes, porque teóricamente es posible detectar variaciones genéticas determinadas por tan solo una alteración de un solo par de bases. Para usos prácticos, esta alta sensibilidad podría ser un problema que pequeñas variaciones inespecíficas en la curva de  $T_m$  pueden conducir a una mala interpretación de los resultados. Por tanto, es necesario un protocolo muy fiable y reproducible.

Para mejorar la sensibilidad, la velocidad y la facilidad de detección, se han probado varios enfoques, como los nuevos protocolos de extracción de ADN (Bextine *et al.*, 2005; Harper *et al.*, 2010; Yaseen *et al.*, 2015), el desarrollo de una técnica basada en la absorción en agar para la eliminación de inhibidores de la PCR (Fatmi *et al.*, 2005) y el uso de PCR multiplex (Choi *et al.*, 2010; Myers *et al.*, 2010). Se utilizó una técnica novedosa, la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), como una alternativa prometedora a la



PCR para la detección de *X. fastidiosa*, es fácil de usar, proporciona una buena fiabilidad y especificidad (Notomi *et al.*, 2000). Además, la reacción LAMP se produce en condiciones isotérmicas, por lo que se puede realizar utilizando un bloque de calor simple y no requiere ningún equipo específico. Los resultados se muestran mediante tintes colorimétricos o fluorescentes, por lo que también se omite la fase de ejecución en gel de la PCR estándar. La técnica LAMP se utilizó con éxito para estudiar 20 aislamientos de *X. fastidiosa* que representan los cuatro subgrupos principales del patógeno (Harper *et al.*, 2010) y más recientemente se aplicó al olivo y otras plantas hospedadoras e insectos vectores (Yaseen *et al.*, 2015). Sin embargo, el principal inconveniente de LAMP en comparación con qRT-PCR es una menor sensibilidad, que el límite de detección fue de aproximadamente 500 copias de la plantilla objetivo por reacción, mientras que para qRT-PCR el límite fue de solo 10 copias por reacción (Harper *et al.*, 2010; Baldi y La Porta, 2017).

### Subespecies a nivel internacional y nacional

*Xylella fastidiosa* es considerada nativa del continente americano la cual infecta el xilema de diversas especies hospedantes; la transmisión entre plantas se lleva a cabo por la alimentación de insectos de la familia *Cicadellidae* (chicharritas), los cuales se comportan como vectores naturales de la bacteria (Redak *et al.*, 2004), probablemente se ha introducido a Europa a través de material vegetal de propagación infectado. *X. fastidiosa* se encuentra ampliamente distribuida a nivel mundial en Asia (China, Taiwán, India, Turquía), Europa (Francia, Italia, España, Alemania, Serbia y Monte Negro), África (Marruecos) América del Norte (Estados Unidos (28 estados), Canadá y México), Centroamérica (Costa Rica) y Sudamérica (Argentina, Brasil, Paraguay, Venezuela) (Camacho-Aguilar *et al.*, 2019; SENASICA, 2019; SENASICA, 2019b; EPPO, 2018; Jeger *et al.*, 2018; CABI, 2011). En la Tabla 2 se presentan el origen y detección de las subespecies de *Xylella fastidiosa*. En las muestras recolectadas de *Xylella fastidiosa* procedentes de Norte América, al ser analizadas genéticamente, dieron como resultado las subespecies: *fastidiosa*, *multiplex* y *pauca*, sin embargo, con los posteriores muestreos y secuenciación se obtuvo una cuarta subespecie: *sandyi*, a pesar de ello, con análisis genéticos posteriores se obtuvo que la subespecie *pauca* (de Sudamérica), la cual no estaba relacionada con las subespecies anteriores debido a un aislamiento. La subespecie *morus*, es una nueva propuesta para este grupo (Almeida y Nunney, 2015). La subespecie *tashke* aún está *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* causante de la enfermedad de Pierce, tiene una

distribución más restringida y solo se tienen reportes en tres continentes: Asia (Taiwán); Europa (Alemania y España) y en América (Estados Unidos, Costa Rica y México) (SENASICA, 2019b; EPPO, 2018). En México actualmente, esta bacteria se encuentra presente y confinada en plantaciones de vid ubicadas en los municipios de Ensenada, Baja California, Parras de la Fuente, Coahuila y Ezequiel Montes, Querétaro, los cuales han sido notificados como áreas de riesgo (DOF, 2015; SENASICA, 2020; Oliva-Hurtado *et al.*, 2020).

### Vectores principales en los árboles de *Citrus* (Tropicales)

Las subespecies de *Xylella fastidiosa* que afectan específicamente a cítricos son *fastidiosa* y *pauca* (de Souza *et al.*, 2020). La primera se detectó en América del Norte y California, mientras que la otra tiene su origen en América del Sur (SENASICA, 2019a). En este sentido, los insectos vectores afines a cítricos son los siguientes: *Bucephalagonia xanthohis*, *Diloboterus costalimaik*, *Acrogonia citrina*, *Oncometopia facialis*, *Ferrariana trivittata*, *Plesiommatia corniculata*, *Homalodisca ignorata*, *Parathona gratioza*, *Sonesimia grossa* y *Acrogonia virescens* (Dellapé y Paradell, 2011). Estos insectos vectores, algunos específicos en cítricos y otros generalistas, se encuentran distribuidos por todo el continente americano (SENASICA, 2019a). Para evitar que la enfermedad se propague se deben realizar labores culturales como la eliminación de malezas hospedantes de insectos vectores, la poda de las ramas dañadas, la eliminación de árboles enfermos y la desinfección de la herramienta utilizada durante las labores.

### Mecanismo de incidencia o infección a nivel molecular

Una vez que el insecto contiene la bacteria, al menos 200 bacterias viables son suficientes para infectar la planta objetivo (Redak *et al.*, 2004), y estas pueden permanecer dentro del insecto por varios meses (Bucci, 2018). Cuando la bacteria se encuentra dentro del intestino anterior del insecto, su éxito varía de acuerdo a la edad del insecto, siendo en el adulto más persistente y aunque se acumula en la cutícula esta no se pierde durante la muda, en este sentido, aún no se conoce cómo es su movimiento en el intestino al hospedero (Backus y Morgan, 2011). La adhesión de las bacterias al intestino anterior del insecto es mediada por los genes *fimA*, *hxfA* y *hxfB*, estos a su vez están bajo el control del gen *rpjF*. Ciertas quitinasas permiten que la bacteria se alimente de la cutícula

**Tabla 2. Origen y detección de las subespecies de *Xylella fastidiosa*.**

| Subespecie                                    | Origen  | Detección  | Referencia  |
|---|---|--|---|
| <i>X. fastidiosa</i> subsp. <i>fastidiosa</i> | Sur de América de Norte y California                      | Mal de Pierce en vid y escaldadura en almendro                                     | (Nunney <i>et al.</i> (2010), citado por Almeida y Nunney (2015)) |
| <i>X. fastidiosa</i> subsp. <i>multiplex</i>  | En regiones templadas y subtropicales de América de Norte | provoca escaldadura en diversos árboles, phony en durazno y escaldadura en ciruelo | (Nunney <i>et al.</i> (2012), citado por Almeida y Nunney (2015)) |
| <i>X. fastidiosa</i> subsp. <i>pauca</i>      | Origen de América de Sur                                  | CVC en cítricos, amarillero en cafeto y declino en olivo                           | (Nunney <i>et al.</i> (2012), citado por Almeida y Nunney (2015)) |
| <i>X. fastidiosa</i> subsp. <i>sandyi</i>     | Sur de EUA  | Causa escaldadura en oleander  | (Yuan <i>et al.</i> , 2010)                                       |
| <i>X. fastidiosa</i> subsp. <i>tashke</i>     | Sin reportes  | Escaldadura en Chitalpa tashkentensis, planta ornamental                           | (Randall <i>et al.</i> , 2009)                                    |
| <i>X. fastidiosa</i> subsp. <i>morus</i>      | Este de EUA y California                                  | Escaldadura en mora  | (Almeida y Nunney, 2015)  |

interna del insecto y de ello depende su sobrevivencia. Las plantas cuentan con respuestas de defensa que impiden la entrada de organismos extraños, característica adquirida durante millones de años, sin embargo, un antígeno “O” de cadena larga impide su respuesta inmune natural, y de esta forma es como las bacterias logran colonizar las plantas (Bucci, 2018). En la planta cuanto más crece una colonia de bacterias, más se deteriora el flujo de savia, y en esta situación se induce la síntesis y secreción de un rango de enzimas, incluyendo aquellas que degradan la pared celular como es el caso de las poligalacturonasa (PG) y endo-1,4-β gluconasa (EGase) (Pérez-Donoso *et al.*, 2010)

## CONCLUSIONES

Fundamentados en la información incluida en esta revisión, se puede decir que *X. fastidiosa* constituye una gran amenaza a varios productos agrícolas de gran importancia económica en todo el mundo al ser un patógeno muy peligroso, esto debido a que tiene un rango muy amplio de hospederos: al inicio de la infección las plantas pueden ser asintomáticas, *X. fastidiosa* se puede distribuir en diferentes tejidos del huésped, lo que dificulta su detección, *X. fastidiosa* cuenta con una gran cantidad de vectores, entre los más importantes están los insectos de la familia *Cicadellidae* y actualmente aun no existen soluciones ni técnicas establecidas para proteger completamente las plantaciones. Por todo lo anterior es importante fortalecer la vigilancia, notificar las áreas de riesgo y confinar plantaciones infectadas para limitar la propagación de este patógeno. La biología molecular

basada en ADN ha demostrado ser una valiosa herramienta para la detección y caracterización de *X. fastidiosa*.

## Agradecimientos

Al Proyecto CYTED “119RT0569” - Red iberoamericana para la vigilancia de *Xylella fastidiosa*. <http://www.cytel.org/es/content/proyectos-agroalimentaci%C3%B3n>

**Funding.** The research was financed by CYTED “119RT0569” Red Iberoamericana para la vigilancia de *Xylella fastidiosa*.

**Conflict of Interest.** The authors declare that they do not have conflicts of interest.

**Compliance with ethical standards.** Does not apply.

**Data availability:** Data are available with Ms Hortensia Brito-vega and Ursula de C. Lopez-Ferrer.

**Author contribution statement (CRediT).** U.deC. López-Ferrer – Data curation, writing – review and editing. H. Brito-Vega - Funding acquisition, writing – review and editing. E. Gómez-Méndez – writing – review and editing. R.Ma. Salinas-Hernández - writing – review and editing

## REFERENCIAS

Aguilar, E., Villalobos, W., Moreira, L., Rodríguez, C.M., Kitajima, E.W. and Rivera, C., 2005. First report of *Xylella fastidiosa* infecting

- citrus in Costa Rica. *Plant Disease*, 89(6), pp. 687-687. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0687B>
- Almeida, R.P. and Nunney, L., 2015. How do plant diseases caused by *Xylella fastidiosa* emerge? *Plant Disease*, 99(11), pp. 1457-1467. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-15-0159-FE>
- ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail), 2012. *Evaluation Du Risque Simplifiée De Xylella fastidiosa*. <http://www.anses.fr/Documents/SVEG-2012sa0121Ra.pdf>.
- Backus, E. A. and Morgan, D.J., 2011. Spatiotemporal colonization of *Xylella fastidiosa* in its vector supports the role of egestion in the inoculation mechanism of foregut-borne plant pathogens. *Phytopathology*, 101(8), pp. 912-922. <http://doi.org/10.1094/PHYTO-09-10-0231>.
- Baldi, P. and La Porta, N., 2017. *Xylella fastidiosa*: host range and advance in molecular identification techniques. *Frontiers in Plant Science*, 8, pp. 944. <http://doi.org/10.3389/fpls.2017.00944>.
- Banks, D., Albibi, R., Chen, J., Lamikanra, O., Jarret, R.L. and Smith, B.J., 1999. Specific detection of *Xylella fastidiosa* Pierce's disease strains. *Current microbiology*, 39(2), pp. 85-88. <https://doi.org/10.1007/s002849900423>
- Berisha, B., Chen, Y.D., Zhang, G.Y., Xu, B.Y. and Chen, T.A., 1998. Isolation of Peirce's disease bacteria from grapevines in Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 104(5), pp. 427-433. <https://doi.org/10.1023/A:1008655621235>
- Bextine, B. and Child, B., 2007. *Xylella fastidiosa* genotype differentiation by SYBR® Green-based QRT-PCR. *FEMS Microbiology Letters*, 276(1), pp. 48-54. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00910.x>
- Bextine, B., Blua, M., Harshman, D. and Miller, T.A., 2005. A SYBR green-based real-time polymerase chain reaction protocol and novel DNA extraction technique to detect *Xylella fastidiosa* in *Homalodisca coagulata*. *Journal of Economic Entomology*, 98(3), pp. 667-672. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.3.667>.
- Bhattacharyya, A., Stilwagen, S., Ivanova, N., D'Souza, M., Bernal, A., Lykidis, A. and Kypides, N.C., 2002. Whole-genome comparative analysis of three phytopathogenic *Xylella fastidiosa* strains. *Proceedings Of The National Academy of Sciences*, 99(19), pp.12403-12408. <https://doi.org/10.1073/pnas.132393999>.
- Bleve, G., Marchi, G., Ranaldi, F., Gallo, A., Cimaglia, F. and Logrieco, A.F., 2016. Molecular characteristics of a strain (Salento-1) of *Xylella fastidiosa* isolated in Apulia (Italy) from an olive plant with the quick decline syndrome. *Phytopathologia Mediterranea*, 55, pp.139-146. [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-17867](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-17867)
- Bove, J.M. and Ayres, A.J., 2007. Etiology of three recent diseases of citrus in Sao Paulo State: sudden death, variegated chlorosis and huanglongbing. *IUBMB Life*, 59(4-5), pp. 346-354. <https://doi.org/10.1080/15216540701299326>.
- Brady, J.A., Faske, J.B., Ator, R.A., Castañeda-Gill, J.M. and Mitchell, F.L., 2012. Probe-based real-time PCR method for multilocus melt typing of *Xylella fastidiosa* strains. *Journal of Microbiological Methods*, 89(1), pp.12-17. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.02.002>
- Brlansky, R.H., Damsteegt, V.D. and Hartung, J.S., 2002. Transmission of the citrus variegated chlorosis bacterium *Xylella fastidiosa* with the sharpshooter *Oncometopia nigricans*. *Plant Disease*, 86, pp. 1237-1239. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.11.1237>
- Bucci, E.M., 2018. *Xylella fastidiosa*, a new plant pathogen that threatens global farming: Ecology, molecular biology, search for remedies. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 502(2), pp.173-182. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.073>.
- Buzkan, N., Krivanek, A.F., Eskalen, A. and Walker, M.A., 2003. Improvements in sample preparation and polymerase chain reaction techniques for detection of *Xylella fastidiosa* in grapevine tissue. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(4), pp. 307-312. <https://www.ajevonline.org/content/54/4/307>
- CABI., 2011. Crop Protection Compendium. *Datasheet for: Xylella fastidiosa*. Wallingford, U.K. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/57195>
- CABI., 2018. *Xylella fastidiosa* (Pierce's disease of grapevines) Data sheet. *Invasive Species Compendium*. UK. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5357>
- Camacho Aguilar, I.I., Hernández Castillo, F.D., González Gallegos, E., Blanco Rodríguez, E.,

- Flores Olivas, A. and García Martínez, O., 2019. Host and Vectors of *Xylella fastidiosa* in Parras, Coahuila Vineyards, Mexico. *Revista Bio Ciencias*, 6, pp. 413. <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e413>
- Chang, C.J., Garnier, M., Zreik, L., Rossetti, V. and Bové, J.M., 1993. Culture and serological detection of the xylem-limited bacterium causing citrus variegated chlorosis and its identification as a strain of *Xylella fastidiosa*. *Current Microbiology*, 27(3), 137-142. <https://doi.org/10.1007/BF01576010>
- Chatterjee, S., Almeida, R.P.P., and Lindow, S., 2008. Living in two worlds: the plant and insect lifestyles of *Xylella fastidiosa*. *Annu. Rev. Phytopathol*, 46, pp. 243-271. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.45.062806.094342>.
- Chen, C., Bock, C.H. and Brannen, P.M., 2019. Novel primers and sampling for PCR detection of *Xylella fastidiosa* in peach. *Phytopathology*, 109(2), pp. 307-317. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-11-18-0439-FI>
- Chen, J., Banks, D., Jarret, R.L., Chang, C.J. and Smith, B.J., 2000. Use of 16S rDNA sequences as signature characters to identify *Xylella fastidiosa*. *Current Microbiology*, 40(1), pp. 29-33. <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=104776>
- Choi, H.K., Goes da Silva, F., Lim, H.J., Iandolino, A., Seo, Y.S., Lee, S.W. and Cook, D.R., 2010. Diagnosis of Pierce's disease using biomarkers specific to *Xylella fastidiosa* rRNA and *Vitis vinifera* gene expression. *Phytopathology*, 100(10), pp.1089-1099. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-10-0014>.
- Ciapina, L.P., Carareto Alves, L.M., and Lemos, E.G.M., 2004. A nested-PCR assay for detection of *Xylella fastidiosa* in citrus plants and sharpshooter leafhoppers. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3), pp. 546-551. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02176.x>.
- Coletta-Filho, H.D. and Machado, M.A., 2003. Geographical genetic structure of *Xylella fastidiosa* from citrus in São Paulo State, Brazil. *Phytopathology*, 93(1), pp. 28-34. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.1.28>
- Coletta-Filho, H.D., Castillo, A.I., Laranjeira, F.F., de Andrade, E.C., Silva, N.T., de Souza, A.A. and Lopes, J.R., 2020. Citrus variegated chlorosis: an overview of 30 years of research and disease management. *Tropical Plant Pathology*, 45, pp. 175-191. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00358-5>
- Davis, M.J., Purcell, A.H. and Thomson, S.V., 1978. Pierce's disease of grapevines: isolation of the causal bacterium. *Science*, 199(4324), pp.75-77. <https://doi.org/10.1126/science.199.4324.75>
- Dellapé, G. and Paradell, S.L., 2011. First record of the genus *Homalodisca* (Hemiptera: Cicadellidae) from Argentina and redescription of the female of *H. Ignorata*. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, 70(3-4), pp. 363-367. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=322028524021>
- de Souza, J.B., Almeida-Souza, H.O., Zaini P.A., Alves, M.N., de Souza, A.G., Pierry, P.M., da Silva, A.M., Goulart, L.R., Dandekar, A.M. and Nascimento R., 2020. *Xylella fastidiosa* subsp. *pauciflora* Strains Fb7 and 9a5c from Citrus Display Differential Behavior, Secretome, and Plant Virulence. *International Journal of Molecular Sciences*, 15;21(18), pp. 6769. <https://doi.org/10.3390/ijms21186769>.
- Doddapaneni, H., Yao, J., Lin, H., Walker, M.A., and Civerolo, E.L. (2006). Analysis of the genome-wide variations among multiple strains of the plant pathogenic bacterium *Xylella fastidiosa*. *BMC Genomics*, 7(1), pp.1-15. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-225>
- DOF (Diario Oficial de la Federación), 2015. AVISO por el que se dan a conocer las zonas bajo control fitosanitario, por presencia de la Enfermedad de Pierce *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*, a la zona vitícola del Valle de Guadalupe, Baja California; Parras de la Fuente, Coahuila de Zaragoza y Ezequiel Montes, Querétaro. *Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación*. Cd., Mx. México. <https://catalogonacional.gob.mx/FichaRegulacion?regulacionId=86941>
- Dugravot, S., Backus, E.A., Reardon, B.J. and Miller, T.A., 2008. Correlations of cibarial muscle activities of *Homalodisca* spp. sharpshooters (Hemiptera: Cicadellidae) with EPG ingestion waveform and excretion. *Journal of Insect Physiology*, 54(12), pp.1467-1478. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2008.05.008>.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2018. Update of the *Xylella* spp. host plant database. *EFSA Journal*, 16(9).

- <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/5408>
- EFSA Panel on Plant Health (PLH)., 2015. Scientific opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. *EFSA Journal*, 13(1), pp. 3989. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6114>
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization)., 2012. *Xylella fastidiosa* detected in a containment facility in France. *EPPO Reporting Service*, (8). <https://gd.eppo.int/reporting/article-2371>
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization)., 2018. *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex*. (XYLEFM). *EPPO Plant Protection Thesaurus EPPT*. <https://gd.eppo.int/taxon/XYLEFM>
- Europea, U., 2019. Decisión de Ejecución (UE) 2015/789 de la Comisión, de 18 de mayo de 2015, sobre medidas para evitar la introducción y propagación dentro de la Unión de *Xylella fastidiosa* (Wells et al.), y modificaciones. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=CELEX%3A32015D0789>
- Fatmi, M., Damsteegt, V.D. and Schaad, N.W., 2005. A combined agar-absorption and BIO-PCR assay for rapid, sensitive detection of *Xylella fastidiosa* in grape and citrus. *Plant Pathology*, 54(1), pp. 1-7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2004.01114.x>
- Francis, M., Lin, H., Cabrera-La Rosa, J., Doddapaneni, H. and Civerolo, E.L., 2006. Genome-based PCR primers for specific and sensitive detection and quantification of *Xylella fastidiosa*. *European Journal of Plant Pathology*, 115(2), pp. 203-213. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9009-4>
- Gardner, M.W. and Hewitt, W.B., 1974. Pierce's Disease of Grapevine: *The Anaheim Disease and the California Vine Disease*. Berkeley, University of California Press. [https://books.google.com.mx/books/about/Pierce\\_s\\_Disease\\_of\\_the\\_Grapevine\\_the\\_An.html?id=5NtJAAAAYAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.mx/books/about/Pierce_s_Disease_of_the_Grapevine_the_An.html?id=5NtJAAAAYAAJ&redir_esc=y)
- Giampetruzzi, A., Saponari, M., Loconsole, G., Boscia, D., Savino, V.N., Almeida, R.P. and Saldarelli, P., 2017. Genome-wide analysis provides evidence on the genetic relatedness of the emergent *Xylella fastidiosa* genotype in Italy to isolates from Central America. *Phytopathology*, 107(7), pp. 816-827. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-16-0420-R>
- Guan, W., Shao, J., Elbeaino, T., Davis, R. E., Zhao, T. and Huang, Q., 2015. Specific detection and identification of American mulberry-infecting and Italian olive-associated strains of *Xylella fastidiosa* by polymerase chain reaction. *Plos One*, 10(6), pp. e0129330. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129330>
- Guan, W., Shao, J., Singh, R., Davis, R. E., Zhao, T. and Huang, Q., 2013. A TaqMan-based real time PCR assay for specific detection and quantification of *Xylella fastidiosa* strains causing bacterial leaf scorch in oleander. *Journal of Microbiological Methods*, 92(2), pp. 108-112. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.11.008>
- Harper, S.J., Ward, L.I. and Clover, G.R.G., 2010. Development of LAMP and real-time PCR methods for the rapid detection of *Xylella fastidiosa* for quarantine and field applications. *Phytopathology*, 100(12), pp. 1282-1288. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-06-10-0168>
- Heid, C.A., Stevens, J., Livak, K.J. and Williams, P.M., 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research*, 6(10), pp. 986-994. <https://doi.org/10.1101/gr.6.10.986>
- Hernandez-Martinez, R., Costa, H.S., Dumenyo, C.K. and Cooksey, D.A., 2006. Differentiation of strains of *Xylella fastidiosa* infecting grape, almonds, and oleander using a multiprimer PCR assay. *Plant Disease*, 90(11), pp. 1382-1388. <https://doi.org/10.1094/PD-90-1382>
- Hopkins, D.L. and Purcell, A.H., 2002. *Xylella fastidiosa*: cause of Pierce's disease of grapevine and other emergent diseases. *Plant Disease*, 86(10), pp. 1056-1066. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.10.1056>
- Huang, Q., 2009. Specific detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing oleander leaf scorch using polymerase chain reaction. *Current Microbiology*, 58(4), pp. 393-398. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9324-4>
- Ionescu, M., Yokota, K., Antonova, E., Garcia, A., Beaulieu, E., Hayes, T. and Lindow, S.E., 2016. Promiscuous diffusible signal factor production and responsiveness of the *Xylella fastidiosa* RPF System. *MBio*, 7(4), pp.

- e01054-16.  
<https://doi.org/10.1128/mBio.01054-16>
- Janse, J.D. and Obradovic, A., 2010. *Xylella fastidiosa*: its biology, diagnosis, control and risks. *Journal of Plant Pathology* (92), pp. 35-48. <http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v92i1sup.2504>
- Jeger, M., Caffier, D., Candresse, T., Chatzivassiliou, E., Dehnen-Schmutz, K., Gilioli, G. *et al.*, and Bragard, C., 2018. Updated pest categorisation of *Xylella fastidiosa*. *EFSA Journal*, 16(7). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5357>
- Landa, B.B., 2015. *Xylella fastidiosa: Biología y ecología del patógeno, medidas de control y situación en Italia*. [https://www.trafoon.org/sites/trafoon.org/files/jaen\\_landa\\_201505.pdf](https://www.trafoon.org/sites/trafoon.org/files/jaen_landa_201505.pdf)
- Landa, B.B., Marco-Noales, E. and López, M.M., 2017. *Enfermedades Causadas por la Bacteria Xylella fastidiosa. Cajamar Caja Rural: Almería, Spain*. ISBN-13: 978-84-95531-86-5, Pp. 320. <http://www.asajamurcia.com/sites/default/files/proyecto/PUBLICACION%20XYLELLA%20CAJAMAR.pdf>
- Legendre, B.S., Mississippi, S., Oliver, V., Morel, E., Crouzillat, D., Durand, K., Portier, P., Poliakoff, F. and Jacques, M.A., 2014. Identification and characterisation of *Xylella fastidiosa* isolated from Coffee plants in France. *Proceedings of the International Symposium on the European outbreak of 'Xylella fastidiosa' in olive. Italia, Gallipoli*, pp. 27-28. <http://doi:10.1007/s12275-008-0072-8>
- Li, W., Teixeira, D.C., Hartung, J.S., Huang, Q., Duan, Y., Zhou, L., *et al.* and Levy, L., 2013. Development and systematic validation of qPCR assays for rapid and reliable differentiation of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. *Journal of Microbiological Methods*, 92(1), pp. 79-89. <http://doi:10.1016/j.mimet.2012.10.008>.
- Loconsole, G., Saponari, M., Boscia, D., D'Attoma, G., Morelli, M., Martelli, G.P. and Almeida, R.P.P., 2016. Intercepted isolates of *Xylella fastidiosa* in Europe reveal novel genetic diversity. *European Journal of Plant Pathology*, 146(1), pp. 85-94. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0894-x>
- Marcelletti, S. and Scortichini, M., 2016. *Xylella fastidiosa* CoDiRO strain associated with the olive quick decline syndrome in southern Italy belongs to a clonal complex of the subspecies *pauca* that evolved in Central America. *Microbiology*, 162(12), pp. 2087-2098. <https://doi:10.1099/mic.0.000388>.
- McElrone, A.J., Seraldi, J.L. and Pooler, M.R., 1999. Identification of alternative hosts of *Xylella fastidiosa* in the Washington, DC, area using nested polymerase chain reaction (PCR). *Journal of Arboriculture*, 25, pp. 258-263. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302923230>
- Melanson, R.A., Sanderlin, R.S., McTaggart, A.R. and Ham, J.H., 2012. A systematic study reveals that *Xylella fastidiosa* strains from pecan are part of *X. fastidiosa* subsp. *multiplex*. *Plant Disease*, 96(8), pp. 1123-1134. <https://doi:10.1094/PDIS-09-11-0730-RE>.
- Miller, J., 1994. *Citrus variegated chlorosis bacterium: axenic culture, pathogenicity, and serological relationships with other strains of Xylella fastidiosa*. *Phytopathology*, 84, pp. 591-597. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1994Articles/Phyto84n06\\_591.PDF](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1994Articles/Phyto84n06_591.PDF)
- Minsavage, G.V., Thompson, C.M., Hopkins, D.L., Leite, R.M.V.B.C. and Stall, R.E., 1994. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. *Phytopathology*, 84(5), pp. 456-461. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1994Articles/Phyto84n05\\_456.PDF](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1994Articles/Phyto84n05_456.PDF)
- Myers, B.A., Brady, J.A., Mitchell, F.L. and Rathburn, H.B., 2010. Genotyping *Xylella fastidiosa* strains using multiplex PCR. *Phytopathology*, 100(6), pp. 88.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N. and Hase, T., 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12), pp. e63-e63. <https://doi:10.1093/nar/28.12.e63>
- Oliva-Hurtado, M.M., Téliz-Ortiz, D., Ortega-Arenas, L.D. and Quezada-Salinas, A., 2020. Distribución de plantas hospedantes silvestres de *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* en México. *Acta Botánica Mexicana*, (127). <https://doi.org/10.21829/abm127.2020.1676>
- Oliveira, A.C., Vallim, M.A., Semighini, C.P., Araújo, W.L., Goldman, G.H. and Machado, M.A., 2002. Quantification of *Xylella fastidiosa*

- from citrus trees by real-time polymerase chain reaction assay. *Phytopathology*, 92(10), pp.1048-1054.  
<https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.10.1048>.
- Olmo, D., Nieto, A., Adrover, F., Urbano, A., Beidas, O., Juan, A., *et al.* and Landa, B.B., 2017. First detection of *Xylella fastidiosa* infecting cherry (*Prunus avium*) and *Polygala myrtifolia* plants, in Mallorca Island, Spain. *Plant Disease*, 101(10), pp. 1820-1820.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0590-PDN>
- Pérez-Donoso, A.G., Sun, Q., Roper, M.C., Greve, L.C., Kirkpatrick, B. and Labavitch, J.M., 2010. Cell wall-degrading enzymes enlarge the pore size of intervessel pit membranes in healthy and *Xylella fastidiosa*-infected grapevines. *Plant Physiology*, 152(3), pp.1748-1759.  
<https://doi.org/10.1104/pp.109.148791>
- Pooler, M.R. and Hartung, J.S., 1995. Specific PCR detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. *Current Microbiology*, 31(6), pp. 377-381.  
<https://doi.org/10.1007/BF00294703>
- Pooler, M.R., Myung, I.S., Bentz, J., Sherald, J. and Hartung, J.S., 1997. Detection of *Xylella fastidiosa* in potential insect vectors by immunomagnetic separation and nested polymerase chain reaction. *Letters in Applied Microbiology*, 25(2), pp. 123-126.  
<https://doi.org/doi:10.1046/j.1472-765x.1997.00188.x>.
- Purcell, A., 2013. Paradigms: examples from the bacterium *Xylella fastidiosa*. *Annual Review of Phytopathology*, 51, pp. 339-356.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102325>
- Purcell, A.H., Finlay, A.H. and McLean, D.L., 1979. Pierce's disease bacterium: Mechanism of transmission by leafhopper vectors. *Science*, 206(4420), pp. 839-841.  
<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US7934836>
- Randall, J.J., French, J., Yao, S., Hanson, S.F. and Goldberg, N.P., 2011. First report of *Xylella fastidiosa* in peach in New Mexico. *Plant Disease*, 95(7), pp. 871-871.  
<https://doi.org/10.1094/PDIS-10-10-0719>
- Rapicavoli, J., Ingel, B., Blanco-Ulate, B., Cantu, D. and Roper, C., 2018. *Xylella fastidiosa*: an examination of a re-emerging plant pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 19(4), pp. 786-800. <https://doi.org/10.1111/mpp.12585>.
- Redak, R.A., Purcell, A.H., Lopes, J.R., Blua, M.J., Mizell Iii, R.F. and Andersen, P.C., 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Reviews in Entomology*, 49(1), pp. 243-270.  
<http://doi.org/10.1146/annurev.ento.49.061802.123403>.
- Saponari, M., Boscia, D., Nigro, F. and Martelli, G.P., 2013. Identification of DNA sequences related to *Xylella fastidiosa* in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (Southern Italy). *Journal of Plant Pathology*, 95(3), pp. 659-668.  
<http://dx.doi.org/10.4454/JPP.V95I3.035>
- Saponari, M., Loconsole, G., Cornara, D., Yokomi, R. K., De Stradis, A., Boscia, D., *et al.* and Porcelli, F., 2014. Infectivity and transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. *Journal of Economic Entomology*, 107(4), pp. 1316-1319. <http://doi.org/10.1603/ec14142>
- Schaad, N.W., Opgenorth, D. and Gaush, P., 2002. Real-time polymerase chain reaction for one-hour on-site diagnosis of Pierce's disease of grape in early season asymptomatic vines. *Phytopathology*, 92(7), pp. 721-728.  
<https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.7.721>
- SENASICA., 2016. Enfermedad de Pierce (*Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*). *Dirección General de Sanidad Vegetal-Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria*. Cd. de México, Ficha Técnica No. 26, pp. 19. <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Fichas%20tecnicas/Ficha%20T%C3%A9cnica%20de%20enfermedad%20de%20Pierce.pdf>
- SENASICA., 2019a. Quemadura de la hoja (*Xylella fastidiosa*). *Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria Dirección General de Sanidad Vegetal Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria*. Ciudad de México. Ficha Técnica No 66, pp. 18. <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Fichas%20tecnicas/Ficha%20t%C3%A9cnica%20quemadura%20de%20la%20hoja.pdf>

- SENASICA., 2019b. Enfermedad de Pierce (*Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa*). *Dirección General de Sanidad Vegetal-Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria*. Cd. De México. Ficha Técnica No. 26, pp.14. <https://prod.senasica.gob.mx/SIRVEF/ContenidoPublico/Avisos%20y%20alertas/Avisos%20publicos/Aviso%20p%C3%BAblico%20Quemadura%20de%20la%20hoja.pdf>
- SENASICA., 2020. *Enfermedad de Pierce: Situación fitosanitaria actual. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria*. <https://www.gob.mx/senasica/documentos/enfermedad-de-pierce-110928>
- Simpson, A.J.G., Reinach, F.D.C., Arruda, P., Abreu, F.A.D., Acencio, M., Alvarenga, R., *et al.* and Setubal, J.C., 2000. The genome sequence of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. *Nature*, 406(6792), pp.151-157. <https://www.nature.com/articles/35018003>
- Su, C.C., Deng, W.L., Jan, F.J., Chang, C.J., Huang, H., Shih, H.T. and Chen, J., 2016. *Xylella taiwanensis* sp. nov., causing pear leaf scorch disease. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(11), pp. 4766-4771. <https://doi:10.1099/ijsem.0.001426>.
- Vanhove, M., Retchless, A.C., Sicard, A., Rieux, A., Coletta-Filho, H.D., De La Fuente, L. *et al.* and Almeida, R.P., 2019. Genomic diversity and recombination among *Xylella fastidiosa* subspecies. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(13), pp. e02972-18. <https://doi.org/10.1128/AEM.02972-18>.
- Van-Sluys, M.A., De Oliveira, M.C., Monteiro-Vitorello, C.B., Miyaki, C.Y., Furlan, L.R., Camargo, L.E.A. *et al.* and Kitajima, J.P., 2003. Comparative analyses of the complete genome sequences of Pierce's disease and citrus variegated chlorosis strains of *Xylella fastidiosa*. *Journal of Bacteriology*, 185(3), pp.1018-1026. <https://doi:10.1128/JB.185.3.1018-1026.2003>.
- Wells, J.M., Raju, B.C., Hung, H.Y., Weisburg, W.G., Mandelco-Paul, L. and Brenner, D.J., 1987. *Xylella fastidiosa* gen. nov., sp. nov: gram-negative, xylem-limited, fastidious plant bacteria related to *Xanthomonas* spp. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 37(2), 136-143. <https://doi.org/10.1099/00207713-37-2-136>
- Wittwer, C.T., Herrmann, M.G., Moss, A.A. and Rasmussen, R.P., 1997. Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. *Biotechniques*, 22(1), pp. 130-138. <https://doi:10.2144/97221bi01>.
- Yaseen, T., Drago, S., Valentini, F., Elbeaino, T., Stampone, G. and Digiario, M., 2015. On-site detection of *Xylella fastidiosa* in host plants and in “spy insects” using the real-time loop-mediated isothermal amplification method. *Phytopathologia Mediterranea*, 54, pp. 488-496. [https://doi.org/10.14601/Phytopathol\\_Mediterr-15250](https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-15250)